AMEA-nın Xəbərləri (biologiya və tibb elmləri), cild 70, №2, səh. 19-24 (2015)

Tobamoviruslarla Yoluxmuş Tomat (*Lycopersicum esculentum* Mill.) Bitkisində Malondialdehidin Miqdarı, Peroksidaza Fermentlərinin Fəallığı Və İzoferment Tərkibi

D.R. Əliyeva, S.T. Mirzəyeva, N.F. Sultanova, İ.M. Hüseynova*, C.Ə. Əliyev

AMEA Molekulyar Biologiya və Biotexnologiya İnstitutu, Mətbuat prospekti, 2A, Bakı AZ1073, Azərbaycan
AMEA Botanika İnstitutu, Badamdar şossesi, 40, Bakı AZ1004, Azərbaycan
**E-mail:i_guseinova@mail.ru*

Abşeron ərazisinə təşkil edilən fitopatoloji monitorinqlər zamanı xarakterik tabomovirus əlamətlərinə malik tomat bitkiləri aşkar edilmişdir. Toplanmış nümunələrdən total RNT ayrılmış və tobamoviruslar üçün universal olan tobamo 1 və tobamo 2 praymer cütlükəri ilə aparılan RT-PCR metodu və serioloji analizlərlə simptomatik bitkilərin tobamoviruslarla yoluxması təsdiq edilmişdir. Eyni zamanda, sağlam və xəstə bitkilərin yarpaqlarında müqayisəli şəkildə malondialdehidin miqdarı, qvayakol peroksidaza (QPO) və benzidin (BPO) fermentlərinin fəallığı və izoferment tərkibi tədqiq edilmişdir. Müəyyən edilmişdir ki, patogenez zamanı malondialdehidin miqdarı artır, peroksidazaların fəallığı yüksəlir və onların molekulyar formalarında kəmiyyət və keyfiyyət dəyişiklikləri baş verir.

Açar sözlər: *Lycopersicum esculentum, tobamovirus, RT-PZR, malondialdehidi, peroksidaza*

GİRİŞ

Tomat (*Solanum lycopersicum* L.*)* bitkisi qida sənayesində istifadə olunan əsas tərəvəz kulturalarından biri hesab edilir. Onun məhsuldarlığına mənfi təsir göstərən təhlükəli xəstəliklər arasında viruslar tərəfindən törədilən virozlar mühüm yer tutur. Hazırda elmə tomat bitkisini yoluxduran 50-dən artıq virus növü məlumdur (Blancard, 2012). Virozlar zamanı bitkinin inkişafı demək olar ki, dayanır, meyvələri və kökləri zədələnir, müxtəlif orqanlarda piqment ləkələr müşahidə olunur (xüsusilə, yarpaq və meyvələrdə), metobolizm pozulur (tənəffüs, fotosintez, ion mübadiləsi və s.) və nəticədə bitki məhv olur. Müxtəlif təbiətli patogenlərə qarşı bitkinin davamlılıq dərəcəsi stres vəziyyətlərində bitkinin metabolizmində baş verən dəyişiliklərə və həyatilik qabiliyyətinə cavabdeh olan bir sıra fizioloji və biokimyəvi göstəricilərlə təmin olunur. Məlumdur ki, ətraf mühitin əlverişsiz amilləri hüceyrədə oksigenin fəal formalarının (OFF) əmələ gəlməsinə səbəb olur ki, bu da öz növbəsində oksidləşdirici stresə gətirib çıxarır. Tədqiqatlar göstərir ki, antioksidant fermentlərin yüksək fəallığına malik olan bitkilər oksigenin fəal formalarının təsirinə daha çox davamlılıq göstərirlər (Baek and Skinner, 2003; Huseynova et al., 2014). Hüceyrələrin oksidləşdirici stresdən müdafiəsini təmin edən əsas fermentlərdən biri peroksidazalardır (PO). Onlar hüceyrədə H_2O_2-nin və üzvi peroksidlərin miqdarının tənzimlənməsinə nəzarət edirlər (Lin and Kao, 2001). Təbiətdə tez-tez rast gəlinən və geniş təsir spektrinə malik olan peroksidazaları bitkilərin stresə davamlılıq markeri hesab etmək olar (Trongsook and Barrett, 2005; Gülen et al., 2008).

Eyni bitkidən olan peroksidazalar molekul kütlələrinə və substrat-spesifikliyinə görə fərqli ola bilirlər. Fermentin substratlarının əksəriyyəti fenol təbiətlidir (qvayakol, benzidin). Onların fəallığı və izoforma tərkibi biotik və abiotik təbiətli müxtəlif stressorların təsir müddətindən və şiddətindən asılıdır. Peroksidaza fermentlərinə hüceyrənin bütün kompartmentlərində rast gəlinir və onun izoformaları sort, orqan, toxuma və hüceyrədaxili spesifikliyi ilə fərqlənirlər (Andreeva, 1988). Onlar torpağın tərkibinin dəyişməsinə, atmosferin çirklənməsinə, quraqlığa və şoranlığa, radiasiya şualarının təsirinə qarşı çox həssasdırlar. Peroksidaza fermentləri həmçinin bitkinin patogenlə yoluxmasının əsas göstəricisi hesab olunurlar. Patogenlə yoluxmuş bitkilərdə fermentin, xüsusilə membranla əlaqəli formanın fəallığı bir neçə dəfə artır (Pomar et al., 2002; Almagro et al., 2009). Patogenez zamanı peroksidazanın fəallığının artması onun onun yeni izoformalarının əmələ gəlməsi və ya mövcud izoformaların sintezinin güclənməsi hesabına baş verir.

Tədqiqat işinin məqsədi tomat bitkisini yoluxduran virusların molekulyar deteksiyasının həyata keçirilməsi, sağlam və xəstə bitkilərin yarpaqlarında malondealdehidin miqdarının, peroksidaza fermentlərinin fəallığı və elektroforetik spektrlərini tədqiq etmək olmuşdur.

MATERİAL VƏ METODLAR

Tədqiqatın obyekti. Tədqiqat işində ET Tərəvəzçilik İnstitutunun Abşeron Təcrübə Bazasında yetişdirilən tomat (*Solanum lycopersicum*) bitkisindən istifadə edilmişdir. Fitopatoloji monitorinqlərin zamanı xəstə bitki nümunələri ilkin olaraq vizual qiymətləndirilmiş və tobamovirusların xarakterik simptomları müəyyən edilmişdir. Eyni zamanda, neqativ kontrol kimi sağlam bitki nümunələri də toplanmışdır.

Seroloji diaqnostika. Vizual diaqnostikanın nəticələrinə uyğun olaraq, virusla yoluxmuş tomat nümunələri seroloji metodlardan (spesifik test-zolaqlar və immunoferment analiz) istifadə etməklə yoxlanılmışdır.

RNT-nin ayrılması. Xəstə və sağlam bitkilərin yarpaq nümunələrindən 30-50 mq götürülərək ektraksiya üçün nəzərdə tutulmuş xususi steril paketlərdə üzərinə 500 mkl ektraksiya buferi (TRİ-reagent) əlavə olunaraq homogen qarışıq alınanadək əzilmiş və 10 dəq müddətinə otaq temperaturunda saxlanılmışdır. Əmələ gəlmiş suspenziya pipetlə götürülərək 1ml-lik nömrələnmiş tyublara keçirilmiş və üzərinə 100 mkl xloroform əlavə edilmiş, vorteksdən sonra yenidən 10 dəq. Müddətinə otaq temperaturunda saxlanılmışdır. 13500 dövr/dəq sürətlə 15 dəqiqə sentrifuqalaşdırılmışdır. Hər tyubda üst fazadan 900 µl götürülərək nömrələnmiş yeni steril 1,5 ml-lik tyublara keçirilmiş, üzərinə 250 µl izopropanol əlavə edilərək ehtiyatla qarışdırıldıqdan sonra 15 dəqiqə ərzində otaq temperaturunda saxlanılmış və 20 dəq 13500 dövr/dəq sürətlə sentrifuqalaşdırılmışdır. Sentrifuqalaşdıqdan sonra supernatant kənarlaşdırılmış və tyubların dibinə çökmüş RNT 2 dəfə 70 %-li etanolda yuyularaq otaq temperaturunda qurudulmuşdur. Ekstraksiya olunmuş RNT nümunələri həll olması üçün 30 dəq otaq temperaturunda saxlanılmış və istifadə edilmək üçün -20°C temperaturda soyuducuya qoyulmuşdur.

RNT-nin təmizlik dərəcəsinin və qatılığının spektrofotometrik təyini. Ekstraksiya edilmiş RNT nümunələrinin təmizlik dərəcəsi və qatılığı spektrofotometrik metodla yoxlanılmışdır. RNT-nin təmizlik dərəcəsi 260 və 280 nm-də optik sıxlıqlar arasındakı nisbətə (OS260/OS280) əsasən təyin edilmişdir.

RNT ekstraktlarının RT-PZR və PZR metodları ilə amplifikasiyası. Ekstraksiya edilmiş RNT nümunələri RT-PZR metodu ilə yoxlanılmışdır. Reaksiya üçün (1 nümunə üçün): 4 µl RNT, 1.5 µl Tobamovirus universal praymer (TobRT do2), 1.5 µl d NTP (25 mM), 4 µl RT (5x) reaksiya, 1 µl M-MLV (enzyme RT), 8 µl ddH2O istifadə edilmişdir. Reaksiya 1 saat müddətində 42°C-də aparılmışdır. Reaksiyanı dayandırmaq üçün nümunələr 10 dəq 65°C-də saxlanılmışdır. RT-PZR məhsulları elektroforetik analiz olunduqdan sonra PZR metodu ilə yoxlanılmışdır. Reaksiya üçün (1 nümunə üçün): 2,5µl reaksiya buferi (10x), 3 µl $MgCl_2$ (50mM), 0,5 µl Tobamovirus universal praymer (Tob RT up 1və TobRT do2), 3 µl dNTP (2,5 mM), 13,5 µl dd H_2O, 0,3 µl Tag polymerasadan ibarət mix hazırlanmışdır. 1 nümunə üçün ümumi reaksiyanın həcmi 25 µl (5µl nümunə RNT-si + 20 µl reaksiya qarışığı) təşkil etmişdir. Reaksiya yığıldıqdan sonra nümunələr DNT Termal amplifikatora (Gene Amp PCR System 2720, Applied Biosystems) yerləşdirilmiş və protokola uyğun ardıcıllıqda proqram tərtib olunaraq PZR həyata keçirilmişdir (İlkin olaraq reaksiya 95°C temperaturda DNT zəncirinin denaturasiyası, 94°C də 1 dəq, 65°C də 45 san, 70°C-də 1 dəq olmaqla 35 tsikl elonqasiya aparılmış və 72°C-də 10 dəq sintez tamamlanmışdır).

Malondialdehidin (MDA) miqdarının təyini. Bitkilərdə lipidlərin peroksidləşməsi prosesinin intensivliyi sağlam və yoluxmuş yarpaq nümunələrində malondialdehidin miqdarına əsasən təyin olunmuşdur. MDA-nın miqdarı spektrofotometrik metodla 532 və 600 nm dalğa uzunluqlarında tiabarbitur turşusu ilə aparılan reaksiyaya əsasən təyin olunur (Heath and Packer, 1968).

Ferment ekstraktının alınması. 0,5 q yarpaq nümunəsi maye azotda əzilərək tərkibində 1 mM EDTA, 2 mM FMSF, 1% PVP, 0,1% Triton X-100 olan100 mM Na-fosfat (pH 7,8) buferində homogenizə edildikdən sonra 4°C temperaturda 20 dəq müddətində 15000 g-də çökdürülmüşdür. Alınan supernatantdan peroksidaza fermentinin analizi üçün istifadə edilmişdir.

Fermentlərin fəallığının təyini. Peroksidazanın (PO, EC 1.11.1.7) fəallığı spektrofotometrik metodla qvayakol peroksidaza üçün 470 nm dalğa uzunluğunda 3 dəq müddətində (Mahalingam et al., 2005), benzidin peroksidaza üçün 590 nm dalğa uzunluğunda 1 dəq müddətində (Gechev et al., 2002) öyrənilmişdir.

Fermentlərin izoenzim tərkibinin təyini. Fermentlərin keyfiyyət analizi 8%-li nativ PAAG elektroforez metodundan istifadə etməklə (Davis, 1964) 3 saat müddətində 4°C temperaturda sabit elektrik cərəyanında (30 mA) aparılmışdır. Elektroforez başa çatdıqdan sonra poliakrilamid gelində qvayakol peroksidazanın izoformaları Radotik və b. (Radotic et al., 2000), benzidin peroksidazanın izoformaları isə Kupers və b. (Cuypers et. al., 2002) metodlarına əsasən rənglənmişdir.

Zülalların miqdarının təyini. Zülalların miqdarı Bredford metoduna əsasən təyin olunmuşdur (Bradford, 1976). Standart zülal kimi albuminin (BSA) suda hazırlanmış müxtəlif qatılıqlarından istifadə edilmişdir.

Statistik analizlər. Alınmış nəticələr Microsoft Office Word 7 və Excel 7 kompüter proqramının vasitəsilə analiz olunmuşdur.

NƏTİCƏLƏR VƏ ONLARIN MÜZAKİRƏSİ

Virus xəstəliklərini aşkar etmək məqsədilə həyata keçirilən fitopatoloji monitorinqlər zamanı xəstə bitkilərdə yarpaq ayasının səthində kələkötürlük, yarpaqların burulub-qıvrılması, yarpaqların xırdalanması (yarpaqların həddən artıq kiçilməsi), qıjıyabənzər yarpaq formasının əmələ gəlməsi (yarpağın qıvrılması), yarpaqlarda nekroz ləkələrin, qəhvəyi rəngli həlqəvi ləkələrin və yarpaq mozaykasının əmələ gəlməsi (açıq sarı və tünd yaşıl hissələrin bir-birini əvəz etməsi), yarpaqların saralması, qızarması, bitkilərdə cırtdan boyluluğun əmələ gəlməsi, kollanmaya meyillilik, meyvələrin inkişafdan qalması, göyərməsi, meyvələrin həddən artıq yumşalması, çürüməsi, bitkinin solması kimi əlamətlər müşahidə edilmişdir (Şəkil 1).

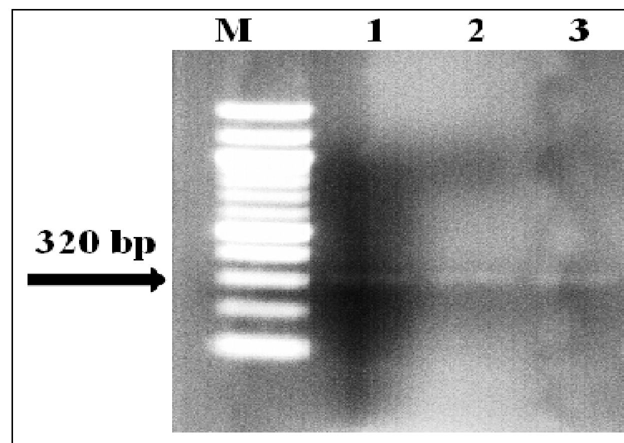




Şəkil 1. Tobamoviruslarla yoluxmuş tomat nümunələrində müşahidə olunan xarakterik simptomlar

Toplanmış tomat nümunələri vizul diaqnostikanın nəticələrinə uyğun olaraq müxtəlif indekator-seroloji metodlarla analiz olunmuş və nəticədə tomat bitkisində dünya üzrə geniş yayılmış və ciddi xəstəliklərə səbəb olan ToMV (*Tomato mosaic virus*), TMV (*Tobacco mosaic virus*), PMMoV (*Pepper mild mottle virus*) kimi tobamoviruslar aşkar edilmişdir.

Tomat bitkisində aşkar olunmuş virus xəstəliklərinin molekulyar diaqnostikasını həyata keçirmək məqsədilə seroloji analizlərin nəticələrinə görə pozitiv nümunələrdən RNT ayrılmış və RT-PZR metodu ilə yoxlanılmışdır. RT-PZR amplifikasiyası zamanı tobamoviruslar üçün universal olan Tobamo 1 (5' -CGACATCAGCCGATGCAGC-3') və Tobamo 2 (5'-ACCGTTTTCGAACCGAGACT-3') praymerləri seçilmişdir. Nəticədə gözlənilən ~320 bp uzunluqda fraqment sintez olunmuşdur (Şəkil 2).

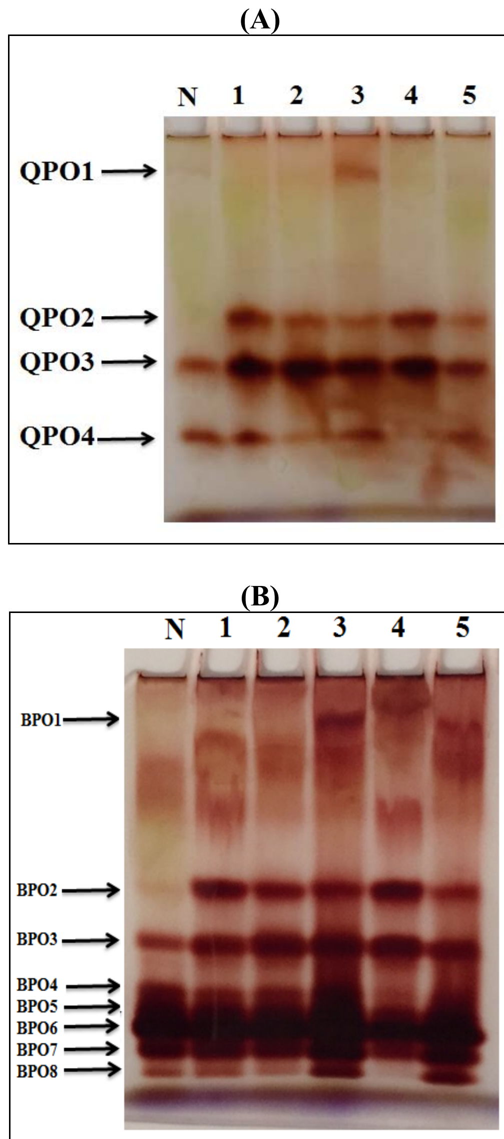


Şəkil 2. ET Tərəvəzçilik İnstitutunun təcrübə sahəsində aparılmış fitopatoloji manitorinqlər zamanı toplanmış xəstə tomat nümunələrinin RT- PZR metodu ilə analizi. M-100 bp DNA ladder, 1- #1; 2- #2; 3-#3.

Məlumdur ki, bitkilərdə oksidləşdirici stresin əsas markerlərindən biri peroksid qruplarının miqdarı sayılır. Son illərdə əldə edilən çoxsaylı eksperimental materiallar göstərir ki, bitki hüceyrələrinin ətraf mühitin ekstremal şəraitinə universal cavab reaksiyalarından biri lipidlərin peroksidləşməsi (LPO) prosesinin fəallaşmasıdır (Da Costa and Huang, 2007; Pandey et al., 2010). LPO reaksiyası canlı orqanizmlərin bütün hüceyrələrində, əsasən də membranın lipid strukturlarında baş verir. Bu zaman müxtəlif stressorların təsiri altında üzvi radikallar ($R^{\cdot}$) əmələ gəlir. Sonrakı mərhələdə əmələ gələn radikallar dərhal O_2 molekulları ilə əlaqəyə girir və nəticədə peroksid radikalları ($RO_2^{\cdot}$) yaranır ki, bu da öz növbəsində doymamış lipidlərə təsir edir və nəticədə uzvi peroksidlər və yeni radikallar əmələ gəlir. Başqa sözlə desək, lipidlərin peroksidləşməsi baş verir ki, bunun da əsas göstəricisi – MDA-nin miqdarının artmasıdır. Bizim təcrübələrimizdə MDA-nın miqdarı patogenez zamanı sağlam bitki ilə müqayisədə təxminən 1,5-2,0 dəfə artır (Cədvəl).

Cədvəl. Tobamoviruslarla yoluxmuş tomat bitkisinin yarpaqlarında MDA-nın miqdarı, qvayakol peroksidaza və benzidin peroksidaza fermentlərinin fəallığı

Bitkilər	MDA, µmol/q yaş kütlə	QPO, µmol/mq zülal dəq	BPO, µmol/mq zülal dəq
Sağlam bitki	1,462±0,073	0,0557±0,002	0,8636±0,043
Xəstə bitkilər			
№1	3,172±0,158	2,2656±0,113	2,3173±0,115
№2	1,483±0,074	2,4707±0,123	2,4938±0,124
№3	3,290±0,164	2,4896±0,124	2,9559±0,147
№4	2,215±0,110	1,5819±0,079	1,8601±0,093
№5	2,290±0,114	1,1285±0,056	2,9606±0,148



Şəkil 3. Sağlam (N) və tobamoviruslarla yoluxmuş (1, 2, 3, 4, 5) tomat bitkisinin yarpaqlarında qvayakol-peroksidaza (A) və benzidin-peroksidaza (B) fermentlərinin izoferment spektri.

Tobamoviruslarla yoluxmuş bütün bitkilətdə peroksidazanın fəallığı artır. Cədvəldən göründüyü kimi, 1 və 2-ci nümunələrdə qvayakol peroksidazanın (QPO), 5-ci nümunədə benzidin peroksidazanın (BPO), 3-cü nümunədə isə həm QPO, həm də BPO-nun fəallığı daha yüksək olmuşdur.

Peroksidazanın izoferment tərkibinin elektroforetik yolla tədqiqi zamanı pomidor bitkisinin yarpaqlarında qvayakol peroksidazanın nəzarət variantında 2 (QPO3, QPO4), stres variantlarında isə 3-cü nümunədə 4 (QPO1, QPO2, QPO3, QPO4), 4-cü nümunədə 2 (QPO2, QPO3), 1-ci və 5-ci nümunələrdə isə 3 izoformasının (QPO2, QPO3, QPO4) olduğu müəyyənləşdirilmişdir (Şəkil 3, A).

Qvayakol peroksidazanın QPO3 və QPO4 konstutiv izoformaları 4-cü variant istisna olmaqla, bütün variantlarda müşahidə olunur. Virusla yoluxmanın dərəcəsindən asılı olaraq, QPO3 və QPO4 izoformaların intensivliyi əhəmiyyətli dərəcədə dəyişir. Belə ki, sağlam bitkilərlə müqayisədə stres variantlarda QPO3 izoformanın intensivliyi artır, QPO4 izoformanın intensivliyi isə azalır. Tabomoviruslarla yoluxma zamanı yarpaq hüceyrələrində yeni QPO1 və QPO2 izoformaları əmələ gəlir.

Sağlam tomat bitkisinin yarpaqlarında benzidin proksidazanın aşağı molekul kütləli 6 izoforması müşahidə olunur (Şəkil 3, B). Virusla yoluxma nəticəsində bütün variantlarda orta molekul kütləli BPO2 izoforması, 3-cü variantda isə yüksək molekul kütləli BPO1 izoformasə əmələ gəlmiş, 4-cü nümunədə isə aşağı molekul kütləli BPO8 izoforması yox olmuşdur.

Elektroforetik analizin nəticələri spektrofotometrik yolla alınan nəticələrlə uzlaşır: peroksidazanın fəallığının dəyişməsi polipeptid xətlərin sayının və intensivliyinin dəyişməsinə uygun gəlir. Belə ki, 4-cü nümunənin fəallığının digər yoluxmuş nümunələrlə müqayisədə nisbətən aşağı olması BPO8 izoformasının itməsi ilə izah oluna bilər. Ehtimal olunur ki, bu fakt peroksidazaların müəyyən genlər tərəfindən kodlaşdırılan izoformalarının funksiyalarının öyrənilməsinə aydınlıq gətirə bilər (Clark et al., 2002; Mydlarz and Harvell, 2006; Sofy, 2013). Alınan nəticələr əsasında belə fikir söyləmək olar ki, hər bir bitkidə müəyyən bir xəstəliyə qarşı onun özünəməxsus müdafiə molekulları spektrindən ibarət immunitet yaranır.

Beləliklə, bitkinin patogenlə yoluxması malondialdehidin miqdarının, peroksidazanın fəallığının və onun müxtəlif molekulyar formalarının kəmiyyət və keyfiyyət dəyişmələri ilə müşayiət olunur. Peroksidazanın fəallığını təyin etməklə bitkinin ilkin

inkişaf dövründə onun patogenə davamlılığını müəyyən etmək və beləliklə, davamsız sortları aradan götürməklə seleksiya işlərini məqsədəuyğun şəkildə sürətləndirmək mümkündür.

MİNNƏTDARLIQ

Bu iş Azərbaycan Respublikasının Prezidenti yanında Elmin İnkişafı Fondunun maliyyə dəstəyi ilə yerinə yetirilmişdir – Qrant № EIF-2014-(9/24) – KETPL -14/11/3).

ƏDƏBİYYAT

Almagro L., Gomez Ros L.V., Belchi-Navarro S., Bru R., Ros Barcelo A., Pedreno M.A. (2009) ClassIII peroxidases in plant defence reactions. *J. Exp. Bot.,* **60(2):** 377–390.

Baek K-H., Skinner D.Z. (2003) Alteration of antioxidant enzyme gene expression during cold acclimation of near-isogenic wheat lines. *Plant Sci.,* **165:** 1221-1227.

Blancard D. (2012) Tomato diseases: identification, biology and control. Second ed., P. 561-627

Bradford M.M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein using the principles of dye-binding. *Anal. Biochem*., **72:** 143-147.

Clarke S.F., Guy P.L., Burritt D.J., Jameson P.E. (2002) Changes in the activities of antioxidant enzymes in response to virus infection and hormone treatment. *Physiol. Planta*., **(114):** 157–164.

Cuypers A., Vangronsveld J., Ciijsters H. (2002) Peroxidases in roots and primary leaves of *Pharsalus vulgaris* copper and zinc phytotoxcity: a comparison. *J. Plant Physiol.,* **159**: 869-876.

Da Costa M., Huang B. (2007) Changes in antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation for bentgrass species in response to drought stress. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.,* **132(3):** 319–326.

Davis B. (1964) Disc electrophoresis. I. Method and application to human serum proteins. *Ann. New York Acad. Sci*., **121:** 404-427.

Gechev T., Gadjiev I., van Breusagem E. et al. (2002) Hydrogen peroxide protects tobacco from oxidative stress by inducing a set of antioxidant enzymes. *Cell Mol. Life Sci*., **59:** 708-714.

Heath R.L, Packer L. (1968) Photoperoxidation in isolated chloroplast. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Arch Biochem Biophys.,* **125:** 189–198.

Mahalingam R., Shah N., Scrymgeour A., Fedoroff N. (2005) Temporal evolution of the Arabidopsis oxidative stress response. *Plant Molecular Biology*, **57**: 709-730.

Mydlarz L.D. and Harvell C.D. (2006) Peroxidase activity and inducibility in the see fan coral exposed to a fungal pathogen. *Comparative Biochem. and Physiol*., **10:** 1016

Pandey H.C., Baig M.J., Chandra A., Bhatt R.K. (2010) Drought stress induced changes in lipid peroxidation and antioxidant system in genus *Avena. J. Environ. Biol.,* **31(4):**435-40.

Pomar F., Caballero N., Pedreno M.A., Ros Barcelo A. (2002) H_2O_2 generation during the autooxidation of coniferyl alcohol drives the oxidase activity of a highly conserved class III peroxidase involved in lignin biosynthesis. *FEBS Lett*., **529:** 98–202.

Radotic K., Ducic´T, Mutavdzic´D. (2000) Changes in peroxidase activity and isoenzymes in spruce needles after exposure to different concentrations of cadmium. *Envir. and Exp. Botany*, **44:** 105–113.

Sofy A.R., Mahfouze Sh.A., El-Enany M.A.M. (2013) Isozyme markers for response of wild potato species to potato spindle tuber viroid Egyptian isolate. *World Appl. Sci. J.,* **27(8):** 1010-1022.

Содержание Малонового Диальдегида, Активность И Изоферментный Состав Пероксидазы Листьев Томата (*Licopersicum esculentum* Mill.) Инфицированных Тобамовирусом

Д.Р. Алиева, С.Т. Мирзоева, Н.Ф. Султанова, И. М.Гусейнова, Д.А. Алиев

Институт молекулярной биологии и биотехнологии НАНА
Институт ботаники НАНА

При проведении фитопатологических мониторингов в Абшероне были выявлены растения томата с характерными признаками тобамовирусов. Из собранных образцов выделена тотальная РНК и методом ОТ-ПЦР с применением пары праймеров tobamo 1 и tobamo 2, универсальных для тобамовирусов, и серологическими анализами доказано присутствие тобамовирусов у растений с характерными симптомами. Одновременно, сравнительно исследовано содержание малонового диальдегида, активность и изоферментный состав ферментов гваяколпероксидазы (ГПО) и бензидин-зависимой пероксидазы (БПО) в листьях у здоровых и больных растений томата. Обнаружено, что при патогенезе увеличивается количество малонового диальдегида, повышается активность обеих пероксидаз и происходят количественные и качественные изменения в их молекулярных формах.

Ключевые слова: *Solanum lycopersicum*, *тобамовирусы, малоновый диальдегид, пероксидаза*

Malondialdehyde Level, Activity And Isoenzyme Spectra Of Peroxidases In Virus Infected Leaves Of Tomato (*Licopersicum esculentum* Mill.) Plants

D.R. Aliyeva, S.T. Mirzayeva, N.F. Sultanova, I.M. Huseynova, J.A. Aliyev

Institute of Molecular Biology and Biotechnology, ANAS
Institute of Botany, ANAS

During the phytopatalogical monitorings conducted to Absheron tomato plants with characteristic tabomovirus symptoms were observed. Total RNA was isolated from the collected samples and trambovirus infection was confirmed in symptomatic plants by the RT-PCR method using the universal tobamo1 and tobamo 2 primer pairs and by the serological analysis. Moreover, malondialdehyde level, activities and isoenzyme spectra of guaiacol (GPO) and benzidine (BPO) peroxidases were comparatively studied in leaves of healthy and infected plants. It was established that pathogenesis caused an increase in the malondialdehyde level and in the activities of peroxidases, as well as quantitative and qualitative changes in their molecular forms.

Key words: *Licopersicum esculentum*, *tobamovirus, malondialdehide, peroxidase*